

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日                      2 0 0 3 年    3 月 1 9 日  
Date of Application:

Yasuhiro MAGATA, et al.                      Q77393  
RADIOACTIVE IODINE-LABELED COMPOUND  
Mark Boland                                      202-293-7060  
September 22, 2003  
1 of 1

出 願 番 号                      特 願 2 0 0 3 - 0 7 5 6 3 8  
Application Number:  
[ST. 10/C]:                      [ J P 2 0 0 3 - 0 7 5 6 3 8 ]

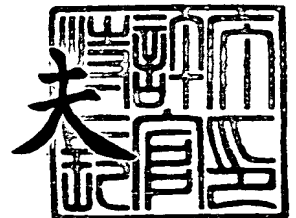
出 願 人                      富士写真フイルム株式会社  
Applicant(s):

CERTIFIED COPY OF  
PRIORITY DOCUMENT

2 0 0 3 年    8 月 2 6 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号    出証特 2 0 0 3 - 3 0 6 9 7 1 9



【書類名】 特許願

【整理番号】 A31122M

【特記事項】 特許法第 3 0 条第 1 項の規定の適用を受けようとする特  
許出願

【提出日】 平成15年 3月19日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C09B 23/00

【発明者】

    【住所又は居所】 静岡県浜松市半田山 2 - 6 - 7 医大宿舎 G 3 3 1

    【氏名】 間賀田 泰寛

【発明者】

    【住所又は居所】 京都府京都市伏見区桃山町大島 2 5 - 1 6 1

    【氏名】 佐治 英郎

【特許出願人】

    【識別番号】 000005201

    【氏名又は名称】 富士写真フイルム株式会社

【代理人】

    【識別番号】 110000109

    【氏名又は名称】 特許業務法人特許事務所サイクス

    【代表者】 今村 正純

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 170347

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

    【物件名】 明細書 1

    【物件名】 図面 1

    【物件名】 要約書 1

    【包括委任状番号】 0205141

【プルーフの要否】 要

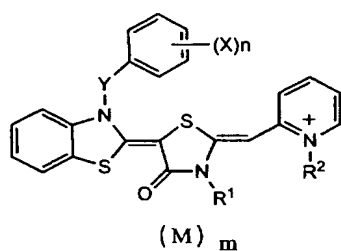
【書類名】 明細書

【発明の名称】 放射性ヨウ素標識化合物

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下記一般式 (I) :

【化 1】



(式中、Xはベンゼン環上任意の位置に置換してもよい放射性ヨウ素原子を示し、nは1から3の整数を示し、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>はそれぞれ独立に置換又は無置換のアルキル基を示し、Yは炭素原子数1から6個のアルキレン基を示し、Mは対イオンを示し、mは分子の荷電を中和するのに必要な数を示す) で表される放射性ヨウ素標識化合物

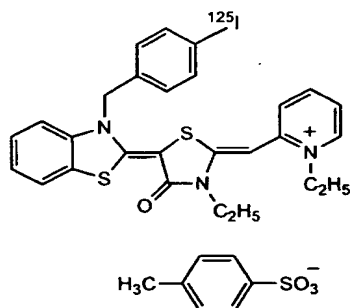
【請求項 2】 Xが<sup>123</sup>I又は<sup>125</sup>Iである請求項1に記載の化合物。

【請求項 3】 R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>がそれぞれ炭素原子数4個以下の無置換アルキル基である請求項1又は2に記載の化合物。

【請求項 4】 Yがメチレン基である請求項1ないし3のいずれか1項に記載の化合物。

【請求項 5】 下記放射性ヨウ素標識化合物

【化 2】



【請求項 6】 請求項1ないし5のいずれか1項に記載の放射性ヨウ素標識化合物

物を含み、腫瘍部位のイメージングに用いるためのシンチグラフィイメージング剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は、新規放射性ヨウ素標識化合物及びシンチグラフィイメージング剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

疾患の治療においては、生体内での疾患に伴う形態学的、さらには機能的な変化を疾病の早い段階で認知することが重要である。特に癌の治療においては腫瘍の位置や大きさを予め知ることは、その後の治療方針の決定に極めて重要な手段となる。すでに試みられている方法としては穿刺等による生検の他、X線イメージング、MRI イメージング、超音波診断等の画像診断法が挙げられる。生検は確定診断としては効果的ではあるが、被験者への負担が大きく、また病変の経時的変化の追跡には不向きである。

【0003】

疾患部位の生理機能を利用した非侵襲的な画像診断法の一つとして、放射性同位体を含む化合物をシンチグラフィ用イメージング剤として用いて、核医学的方法により画像化する方法が知られている。シンチグラフィイメージングは従来の形態描出画像診断（CT、MRI、超音波）による腫瘍診断の限界打破、すなわち微小のがん、全身がんの検査、再発がんの発見に有力であると考えられている。

【0004】

シンチグラフィイメージング剤には正常部位と腫瘍部位を識別し、腫瘍部位へ選択的に蓄積する性能が求められる。このような腫瘍蓄積性を示す化合物として、例えば光化学治療（photodynamic therapy, PDT）に用いられているヘマトポルフィリン等のポルフィリン系化合物が挙げられる（他にフォトフィリンやベンゾポルフィリン等が当該化合物群に含まれる：Lipsn R.L. ら、上述、Meng T.S. ら、SPIE (1992)1641, 90-98、W084/04665等参照）。しかしながらこれらの

化合物は本来 P D T において使用されるものであるため、光毒性（P D T には当該特性が要求される）を有し、従って診断薬としては望ましいものではなかった。また、これらの化合物は腫瘍選択性が十分ではない。

#### 【0005】

一方、腫瘍ターゲティング法の一つとして、腫瘍選択性の高い油性イメージング剤であるリピオドールを基剤として用い、この基剤に合成高分子制癌剤（すなわちスチレンマレイン酸の一酸無水物と蛋白性制癌剤ネオカルチノスタチンを反応させて得られる制癌剤）を溶解させて、肝動脈に注入し肝癌を治療する方法も知られている（前田ら；癌と化学療法，第12巻第3号，PART II, 773-781, 昭和60年3月）。また、脂溶性カチオン化合物であるローダミン123が腫瘍蓄積性を示すことが見出され（Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 79, 5292-5296(1982)）、それが正常細胞と腫瘍細胞のミトコンドリア膜電位差に由来することが報告されている（J. Biol. Chem., 260, 13844-13850(1985)）。ローダミン123は $\pi$ 電子の非局在化による高い脂溶性を有する1価のカチオン化合物であり、腫瘍細胞におけるミトコンドリア内膜電位の低下による電位差を利用して腫瘍に選択的に集積する一群の化合物はDLCと総称される（ $\pi$ -electron delocalized lipophilic cations）。

#### 【0006】

写真科学の分野において用いられる分光増感色素又は染料であるシアニン化合物やロダシアニン化合物もローダミン123と同様に脂溶性1価カチオン化合物であり、腫瘍蓄積性を示す化合物がいくつか報告されている（典型的な化合物として、例えばMKT077：1-エチル-2-[[3-エチル-5-(3-メチルベンゾチアゾリン-2-イリデン)-4-オキソチアゾリジン-2-イリデン]メチル]ピリジニウムクロライドがJ. Med. Chem., 40, 3151-3160(1997)に記載されている）。例えば生体組織透過性に優れた近赤外領域に蛍光を発するシアニン系化合物を腫瘍に蓄積させて蛍光イメージング剤として用いる方法や（W0 00/16810）、ロダシアニン化合物の制癌剤としての利用（日本特許第2864188号）が報告されている。該特許は制癌剤として利用するために化合物の水溶性を高めることが課題であり、それゆえに十分な腫瘍蓄積性を有していなかった。これまでに腫瘍集積性の高いカチオン化合物

、特にシアニン・ロダシニン色素系化合物を放射性ヨウ素核種で標識する例は報告されていない。

# 【0007】

【非特許文献1】 J. Med. Chem., 40, 3151-3160(1997)

# 【0008】

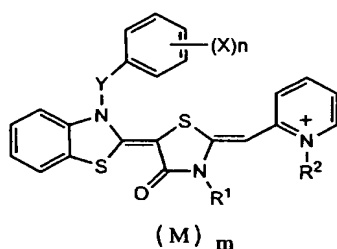
【発明が解決しようとする課題及び課題を解決するための手段】

本発明は腫瘍を特異的にイメージングすることが可能なシンチレーションイメージング剤を提供することを目的とする。本発明者らは上記の課題を解決すべく、従来DLCとして知られているMKT077の母核構造を利用して、この化合物の腫瘍集積性を損なうことなく放射性ヨウ素原子を導入するための修飾方法を鋭意研究した。その結果、下記の一般式(I)で表される化合物が腫瘍細胞に対して極めて高い集積性を有しており、シンチレーションイメージング剤として優れた性質を有していることを見出した。本発明は上記の知見を基にして完成されたものである。

# 【0009】

すなわち、本発明により、下記一般式 (I) :

# 【化3】



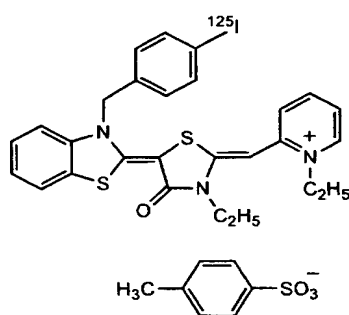
(式中、Xはベンゼン環上任意の位置に置換してもよい放射性ヨウ素原子を示し、nは1から3の整数を示し、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>はそれぞれ独立に置換又は無置換のアルキル基を示し、Yは炭素原子数1から6個のアルキレン基を示し、Mは対イオンを示し、mは分子の荷電を中和するのに必要な数を示す)で表される放射性ヨウ素標識化合物が提供される。

# 【0010】

この発明の好ましい態様によれば、Xが<sup>123</sup>I又は<sup>125</sup>Iである上記の放射性ヨウ

素標識化合物； $R^1$ 及び $R^2$ がそれぞれ独立に炭素原子数4個以下の無置換アルキル基である上記の放射性ヨウ素標識化合物；及びYがメチレン基である上記の放射性ヨウ素標識化合物が提供される。特に好ましい化合物として、下記放射性ヨウ素標識化合物が提供される。

【化4】



【0011】

別の観点からは、上記の放射性ヨウ素標識化合物を含み、腫瘍部位のイメージングに用いるためのシンチグラフィイメージング剤が本発明により提供される。この発明の好ましい態様によれば、腫瘍細胞又は腫瘍組織のイメージングに用いる上記のシンチグラフィイメージング剤が提供される。また、上記シンチグラフィイメージング剤の製造のための上記の放射性ヨウ素標識化合物の使用；シンチグラフィイメージング法であって、上記の放射性ヨウ素標識化合物を含むシンチグラフィイメージング剤をヒトを含む哺乳類動物に投与した後に該放射性ヨウ素標識化合物が発生する放射線を検出する工程を含む方法；腫瘍細胞又は腫瘍組織のイメージング方法であって、上記の放射性ヨウ素標識化合物を含むシンチグラフィイメージング剤をヒトを含む哺乳類動物に投与した後に該放射性ヨウ素標識化合物が発生する放射線を検出する工程を含む方法が本発明により提供される。

【0012】

【発明の実施の形態】

Xはベンゼン環上任意の位置に置換してもよい放射性ヨウ素原子を示す。ヨウ素原子の放射性同位体の種類は特に限定されないが、好ましくは $^{122}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、及び $^{131}\text{I}$ が挙げられる。さらに好ましくは $^{123}\text{I}$ 及び $^{125}\text{I}$ である。ベンゼン環

上における X の置換位置及び個数 (n) は特に限定されないが、ベンゼン環の 2, 4 位に 2 個の放射性ヨウ素原子を有する化合物が好ましく、ベンゼン環の 4 位に 1 個の放射性ヨウ素原子を有する化合物がさらに好ましい。

### 【0013】

R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>はそれぞれ独立に置換又は無置換のアルキル基を示す。本明細書においてアルキル基は直鎖状、分枝鎖状、環状、又はそれらの組み合わせのいずれであってもよい。環状アルキル基にはビシクロアルキル基などの多環性アルキル基を含み、シクロペンタノヒドロフェナントレイン骨格を有するいわゆるステロイド構造も含む。アルキル部分を含む他の置換基のアルキル部分についても同様である。アルキル基上の置換基の種類、個数、及び置換位置は特に限定されない。アルキル基上の置換基の例としては、ハロゲン原子（フッ素、塩素、臭素、又はヨウ素）、アルケニル基（シクロアルケニル基、ビシクロアルケニル基を含む）、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシル基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基（アニリノ基を含む）、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキル及びアリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、スルホ基、アルキル及びアリールスルフィニル基、アルキル及びアリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、アリール及びヘテロ環アゾ基、イミド基、ホスフィノ基、ホスフィニル基、ホスフィニルオキシ基、ホスフィニルアミノ基、シリル基などが挙げられる。R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>として好ましくは炭素数が 4 以下の無置換アルキル基を用いることができ、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>がともにエチル基である場合がさらに好ましい。

### 【0014】

Y は炭素原子数 1 から 6 個のアルキレン基を示す。該アルキレン基は直鎖状又は分枝鎖状のいずれであってもよく、置換基を有していてもよい。置換基を有する



場合、置換基としてはアルキル基について説明した置換基を用いることができる。好ましくは無置換のアルキレン基が用いられる。該アルキレン基の炭素原子数は1から3個が好ましく、より好ましくは炭素原子数が1又は2個であり、最も好ましいのはメチレン基である。

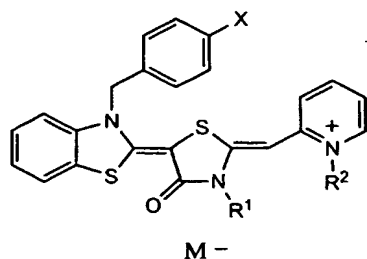
#### 【0015】

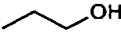



Mは対イオンを表す。Mは陽イオンでも陰イオンでもよく、陽イオンとしてはナトリウムイオン、カリウムイオン、リチウムイオンなどのアルカリ金属イオン、テトラアルキルアンモニウムイオン、ピリジニウムイオンなどの有機イオンが挙げられる。陰イオンは無機陰イオンあるいは有機陰イオンのいずれであってもよく、ハロゲン陰イオン（例えば、フッ素イオン、塩素イオン、臭素イオン、ヨウ素イオンなど）、置換アリールスルホン酸イオン（例えば、p-トルエンスルホン酸イオン、p-クロルベンゼンスルホン酸イオンなど）、アリールジスルホン酸イオン（例えば、1,3-ベンゼンジスルホン酸イオン、1,5-ナフタレンジスルホン酸イオンなど）、アルキル硫酸イオン（例えば、メチル硫酸イオンなど）、硫酸イオン、チオシアン酸イオン、過塩素酸イオン、テトラフルオロホウ酸イオン、ピクリン酸イオン、酢酸イオン、トリフルオロメタンスルホン酸イオンなどが挙げられる。また、Mは水素イオンでもよい。Mは陰イオンである場合が好ましい。陰イオンとしてはハロゲン陰イオン、置換アリールスルホン酸イオン、酢酸イオンが好ましく、さらに好ましくは塩素イオン又はp-トルエンスルホン酸イオンである。

#### 【0016】

以下に本発明の化合物の具体例をあげるが、本発明の範囲はこれらの例示化合物に限定されるものではない。本発明の好ましい態様としてYがメチレン基である化合物を示す。

## 【化5】



No.	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	M
1	<sup>125</sup> I	Et	Et	p-TsO
2	<sup>125</sup> I	Et	Me	Cl
3	<sup>125</sup> I	Me	Me	Br
4	<sup>125</sup> I	Me		p-TsO
5	<sup>125</sup> I			p-TsO
6	<sup>123</sup> I	Et	Et	p-TsO
7	<sup>123</sup> I	Et	Me	Cl
8	<sup>123</sup> I	Me		p-TsO

## 【0017】

本発明の化合物は1以上の不斉中心を有する場合があるが、この場合、不斉中心に基づく光学活性体又はジアステレオ異性体などの立体異性体が存在する。純粋な形態の任意の立体異性体、任意の立体異性体の混合物、ラセミ体などは、いずれも本発明の範囲に包含される。さらに本発明の化合物は水和物又は溶媒和物を形成する場合もあるが、このような場合も本発明の範囲に包含される。

## 【0018】

本発明の化合物の製造方法は特に限定されず、適宜の方法により製造できる。一般的に、放射性ヨウ素化合物の合成は、対応する非放射性ヨウ素化合物を合成した後に、Appl. Radiat. Isot., 37(8), 907 (1986)等に記載されている既知の方法で実施することができる。本発明の代表的化合物の製造方法を以下のスキーム及び実施例に具体的かつ詳細に示したので、当業者はこの製造方法を参照しつつ

、原料化合物、反応試薬、及び反応条件などを適宜選択し、必要に応じて該方法に適宜の修飾ないし改変を加えることにより、式(I)に包含される任意の化合物を容易に製造できる。

#### 【0019】

例えば、原料1Cに代えて適宜のアルキルヨードベンゼン誘導体を用いることによっても同様に反応が進行すること、及びそのようなアルキルヨードベンゼン誘導体のアルキル基の任意の位置に脱離基として臭素原子やトシル基などの官能基を適宜導入できることは当業者に容易に理解されることである。アルキルヨードベンゼン誘導体のアルキル基は、容易に入手可能な原料化合物から例えば、Wittig反応やBarbier-Wieland分解、Arndt-Eistert合成、アセチリドを用いる方法（例えば、Tetrahedron Lett. 35, 9501 (1994)に記載の方法に準拠）、クロロ蟻酸エステルを用いる方法（例えば、Synthesis 427 (1986)に記載）、マロン酸ジエチルを用いる方法（例えば、Arch. Pharm. (Weinheim) 328, 271 (1995)に記載）などにより適宜の長さのアルキル基に変換できる。また、アルキルヨードベンゼン誘導体のベンゼン環上のヨウ素原子は、例えば、Richard C. Larock著、Comprehensive organic transformations (VCH) に記載の方法によりベンゼン誘導体を原料として導入することができる。

#### 【0020】



化合物を有効成分として含むシンチグラフィイメージング剤は、腫瘍細胞又は腫瘍組織を選択的にイメージングできる。いかなる特定の理論に拘泥するわけではないが、腫瘍細胞においては一般的にミトコンドリア内膜電位が正常細胞に比べて低下しており、本発明の化合物はこの電位差に基づいて腫瘍細胞に選択的に集積する性質を有している。本発明のイメージング剤は好ましくは非経口的に投与することができ、より好ましくは静脈内投与することができるが、経口的に投与できる場合もある。一般的に、本発明のイメージング剤は、当業界で通常使用されているシンチグラフィイメージング剤に準じて、注射剤、好ましくは静脈内投与用の注射剤として提供することができる。注射剤は凍結乾燥形態の粉末状組成物として提供され、用時に水又は他の適当な媒体（例えば生理食塩水、ブドウ糖等輸液、緩衝液など）に溶解して使用するものであってもよい。本発明のイメージング剤の投与量は特に限定されず、イメージング対象となる腫瘍細胞又は腫瘍組織の種類や病変部の大きさ、患者の年齢、体重などに応じて、病変部において放出される放射線を体外から検出できるように選択すればよい。

#### 【0022】

##### 【実施例】

以下、本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが、本発明の範囲は下記の実施例により限定されることはない。下記の実施例における化合物番号は上記のスキーム中の化合物番号に対応させてある。

##### 例1：本発明の化合物の合成

##### (1) 化合物1Bの合成

2-ピコリン（化合物1A）0.46gとパラトルエンスルホン酸エチル1.00gを140℃にて2.5時間反応させた。反応液を90℃まで冷却後、アセトン2mlを加え、さらに室温まで冷却した。生じた白色沈殿を吸引ろ過したのち、アセトンから再結晶して化合物1Bを収率53.9%で得た。化合物1Bは精製することなく次の反応に用いた。

#### 【0023】

##### (2) 化合物1Dの合成

p-ヨードトルエン（化合物1C）25gとN-ブロモスクシンイミド23.5g、過酸化

ベンゾイル375mgを四塩化炭素375mlに加え、光照射を行いながら7時間加熱還流した。さらに室温にて一晩攪拌した後不溶物をろ過により除去し、ろ液を減圧濃縮した。濃縮残渣を酢酸エチル、ヘキサンで再結晶して化合物 1 D を収率60.3%で得た。

NMR ケミカルシフト  $\text{CDCl}_3$  TMS 標準

$\delta$  7.72 (d, 2H), 7.14 (d, 2H), 4.39 (s, 2H)

#### 【0024】

##### (3) 化合物 1 E の合成

化合物 1 D ; 6.14g とシルバートシレート6.08gを脱水アセトニトリル300mlに溶解し、50℃にて5時間攪拌した。沈殿した臭化銀をろ過により除去し、ろ液を減圧濃縮した後残渣をエーテルにて抽出した。エーテル層を減圧濃縮した後、残渣をエーテルにて再結晶して化合物 1 E を収率40.8%で得た。

NMR ケミカルシフト  $\text{CDCl}_3$  TMS 標準

$\delta$  7.75 (d, 2H), 7.51 (d, 2H), 7.35 (d, 2H), 7.15 (d, 2H), 5.08 (s, 2H), 2.30 (s, 3H)

#### 【0025】

##### (4) 化合物 1 G の合成

化合物 1 E ; 1.00g と 2-メチルチオベンゾチアゾール0.311g及びアニソール0.435mlを135℃にて4時間攪拌した(1 F の生成)。室温まで冷却した後3-エチルローダミン0.277gとアセトニトリル6.2mlを加え、反応液を15℃に保ちながらトリエチルアミン0.28gを滴下して10℃にて4時間攪拌した。反応液に析出した黄色結晶を吸引ろ過で濾取し、結晶をアセトニトリルとメタノールで洗浄した。得られた粗結晶をアセトン300mlに懸濁させて15分間加熱還流した後に熱時ろ過し、さらにメタノールで結晶を洗浄して化合物 1 G を収率65%で得た。

NMR ケミカルシフト  $\text{CDCl}_3$  TMS 標準

$\delta$  7.93 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.66 (d, 2H), 7.52 (t, 1H), 7.35 (t, 1H), 7.14 (d, 2H), 4.83 (s, 2H), 4.10 (q, 2H), 1.20 (s, 3H)

#### 【0026】

##### (5) 化合物 1 H の合成

化合物 1 G ; 1.00g とパラトルエンスルホン酸メチル 2.24g を N,N-ジメチルホルムアミド 1ml に加え 140℃ にて 2.5 時間攪拌した。反応液を 95℃ まで冷却した後アセトン 8.8ml を加え、10℃ まで冷却しながら攪拌した。析出した黄色結晶を濾取した後、アセトンで 15 分間熱洗浄して化合物 1 H を収率 64.2% で得た。

NMR ケミカルシフト  $\text{CDCl}_3$  TMS 標準

$\delta$  8.18 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.70 (dd, 1H), 7.66 (d, 2H), 7.52 (dd, 1H), 7.46 (d, 2H), 7.14 (d, 2H), 7.10 (d, 2H), 4.83 (s, 2H), 4.17 (q, 2H), 3.05 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.33 (t, 3H)

### 【0027】

#### (6) 化合物 1 の合成

化合物 1 H ; 1.00g と化合物 1 B ; 0.429g をアセトニトリル 7.3ml に加えて 70℃ に昇温し、トリエチルアミン 0.443g を添加してそのまま 1.5 時間攪拌した。反応液に酢酸エチル 7.3ml を滴下して 30℃ まで冷却し、生成した結晶を濾取した。粗結晶をメタノール 4.7ml に溶解し、酢酸エチル 14.6ml を加えて 50℃ にて 3 時間攪拌後、室温に冷却して橙色結晶を濾取した。さらに該結晶をメタノール 1ml に溶解し、3000rpm にて 10 分間遠心分離して上清を減圧濃縮することにより化合物 1 を収率 32.1% で得た。

融点：268-270℃

$\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) [nm] ( $\epsilon$ ) : 494 ( $4.82 \times 10^4$ )

NMR ケミカルシフト  $\text{CDCl}_3$  TMS 標準

$\delta$  8.70 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 8.26 (t,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 8.06 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.88 (dd,  $J=8.0, 8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.66 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 2H), 7.61 (dd,  $J=8.0, 8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.49 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 2H), 7.47 (dd,  $J=8.0, 8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.28 (dd,  $J=8.0, 8.0\text{Hz}$ , 1H), 7.14 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 2H), 7.11 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 2H), 5.98 (s, 3H), 4.83 (s, 2H), 4.60 (q,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 4.11 (q,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 2.28 (s, 3H), 1.43 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H), 1.24 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H)

### 【0028】

#### (7) 本発明の化合物の合成

化合物 1 を 0.1M の水酸化ナトリウム水溶液に加え、酢酸エチルで抽出し減圧濃縮

した。濃縮物0.1mgを100 $\mu$ lのメタノールに溶解し、4mM硫酸銅水溶液5.0 $\mu$ l、0.15M硫酸アンモニウム水溶液2.0 $\mu$ l及び $^{125}$ I-NaIアルカリ溶液を加え、閉鎖系により油浴上120℃で6時間反応させた。反応液から下記HPLC条件にて本発明の化合物を分取した。

カラム：Chemco Lichrosorb 7.5 $\times$ 300mm

検出波長：254nm

流量：3.0ml / min

カラム温度：30℃

溶離液：メタノール／水＝7／3

収率：50％、

Radiochemical purity：>95％

### 【0029】

#### 例2：腫瘍細胞集積性

##### (1)使用培地

①LS180（ヒト大腸癌細胞）、SHIN-III（ヒト卵巣癌細胞）、U87MG（グリオーマ）

500mlの超純水中に市販のRPMI1640培地（ニッスイ）5.1gを溶解し、オートクレーブ処理した後、クリーンベンチ内でL-グルタミン0.15g、メイロン（7%炭酸水素ナトリウム水溶液、注射用製剤）14ml、FBS55mlを加えて調製した培地で培養した。

②NIH3T3（繊維芽細胞：コントロール）

500mlの超純水中に市販のDMEM培地（ニッスイ）を溶解し、オートクレーブ処理した後、クリーンベンチ内でL-グルタミン0.15g、メイロン（7%炭酸水素ナトリウム水溶液、注射用製剤）14ml、及びFBS 55mlを加えて調製した培地で培養した。

### 【0030】

#### (2)培養方法

##### (a)凍結保存細胞の解凍

10％DMSO入りメディウム中で冷凍保存していた細胞を解凍し、15mlファルコン



チューブに移し、PBSを加え5mlとして1300rpm、5分で遠心分離を行った。上清を吸引除去し、沈殿をPBS5mlに懸濁し再度1300rpm、5分間遠心分離を行った。上清を吸引除去し、沈殿をメディウム10mlに懸濁させ、10cm ディッシュに播種して37℃、5%CO<sub>2</sub>インキュベーター内に静置した。

(b) 植え替え時期

①LS180、SHIN-III、U87MG

3日後、10cm ディッシュに80～90%に増殖したところで15cm ディッシュに植え替えた。

②NIH3T3

一週間後、10cm ディッシュに80～90%に増殖したところで15cm ディッシュに植え替えた。

【 0 0 3 1 】

(c) 植え替え

10cm ディッシュをインキュベーターから取り出し、上清を吸引除去した。PBSで3回洗浄した後トリプシン-EDTA (0.05%トリプシン、0.53mM EDTA4ナトリウム塩) 1mlとPBS1mlを加え、CO<sub>2</sub>インキュベーター内に10分静置した。インキュベーターから取り出し、細胞が剥離したことを確認後、15mlファルコンチューブに移した。PBSを添加して5mlにして1300rpm、5分間遠心分離を行い、上清を吸引除去した。沈殿をPBS5mlに懸濁させ、再度1300rpm、5分間遠心分離して上清を吸引除去した。沈殿を8mlのメディウムに懸濁し、あらかじめメディウム16ml加えておいた15cm ディッシュ二枚に4mlずつ播種して37℃、5%CO<sub>2</sub>インキュベーター内に静置した。

【 0 0 3 2 】

(d) 保存

LS180、SHIN-III、U87MGは3日後、NIH3T3は1週間後、15cm ディッシュに80～90%増殖したところでインキュベーターから取り出し、上清を吸引除去した。PBSで3回洗浄した後、トリプシン-EDTA3ml、PBS3mlを加え、CO<sub>2</sub>インキュベーター内に10分間静置した。インキュベーターから取り出し、細胞が剥離したのを確認後、50mlファルコンチューブに移した。PBSで15mlとして、1300rpm、5分間遠心

分離、上清を吸引除去し沈殿をPBS15mlに懸濁し、再度1300rpm、5分間遠心分離した。上清を吸引除去し、沈殿を8mlの10%DMSO入りメディウムに懸濁。2mlのクライオジェニックチューブ4本に分注し、-80℃ディープフリーザー内で保存した。

### 【0033】

#### (e)取り込み実験

取り込み実験実施二日前に24穴プレートに細胞を播種した（細胞懸濁メディウム500ml/well、細胞1種につき5well/plate）。播種した5well中4well内のメディウムを例1で得た化合物： $0.5\mu\text{Ci}$ を含むメディウム500mlに置き換え、インキュベートした。取り込み時間（30分、1時間、3時間）終了後の全てのwellの上清を吸引除去した。本発明の化合物を加えた4wellは0.2N NaOHで細胞を剥離し放射能を測定した。残り1wellはトリプシン-EDTAを加えて剥離させた後、血球計数板にて細胞数をカウントした。細胞数、放射能より細胞100,000個あたりに換算した%doseおよび正常細胞(NIH3T3)との比を算出した。結果を表1に示す。表1より明らかなように、本発明の化合物は正常細胞に比べLS180（ヒト大腸癌細胞）では約3倍、SHIN-III（ヒト卵巣癌細胞）では約7倍、U87MG（グリオーマ）では約2倍の取り込みが認められた。

### 【0034】

【表1】

	30分後	1時間後	3時間後
LS180	3.37 ± 0.31	5.33 ± 0.43	10.2 ± 0.97
SHIN-III	6.26 ± 0.73	11.7 ± 1.16	25.2 ± 2.42
U87MG	3.19 ± 1.86	3.07 ± 0.09	5.32 ± 0.70
3T3(contr	1.40 ± 0.03	2.12 ± 0.14	3.34 ± 0.18

Values are means ± S.D. as % dose / 100000cells

### 【0035】

#### 例3：体内分布実験

ヌードマウス（雄性、5週齢）の大腿部皮下にSHIN-IIIヒト卵巣癌細胞を $1.0 \times 10^6$ 個植え付けた。17日後、本発明の化合物(18.5kBq)を5%DMSOを含む生理食塩水溶

液100 $\mu$ lに溶解し、尾静脈より投与した。5分、10分、30分後に屠殺し、各臓器の重量、放射能を測定した。腫瘍組織と筋肉組織の集積比を図1に示した。図1から明らかなように、SHIN-IIIを移植したヌードマウスを用いたin vivoの系において本発明の化合物は筋肉よりも腫瘍組織に多く集積することがわかる。

#### 【0036】

##### 【発明の効果】

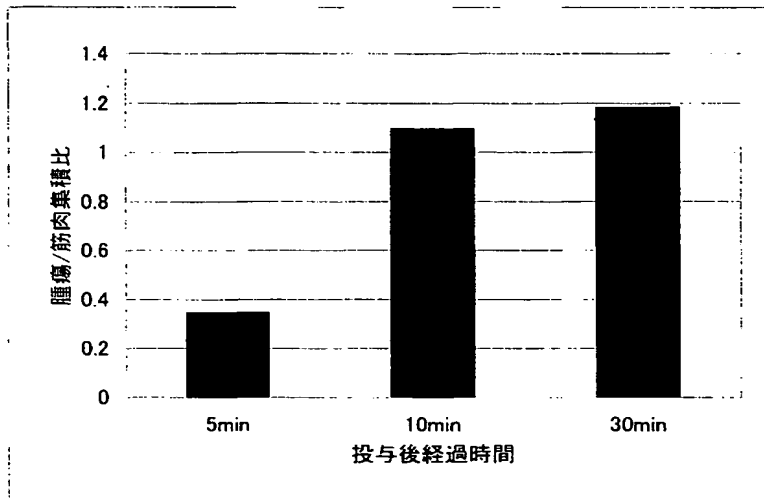
本発明の化合物は良好な腫瘍集積性を有しており、放射性ヨウ素標識シンチグラフィイメージング剤として腫瘍の診断に有用である。

##### 【図面の簡単な説明】

【図1】 ヌードマウスにおける本発明の化合物の腫瘍組織と筋肉組織の集積比を示した図である。

【書類名】 図面

【図 1】



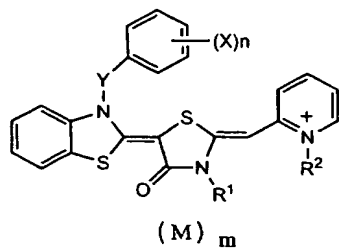
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 腫瘍細胞や腫瘍組織に選択的に集積可能な放射性ヨウ素標識化合物及び該化合物を含むシンチグラフィイメージング剤を提供する。

【解決手段】 下記一般式 (I) :

【化 1】



(式中、Xはベンゼン環上任意の位置に置換してもよい放射性ヨウ素原子（好ましくは<sup>123</sup>I又は<sup>125</sup>Iなど）を示し、nは1から3の整数を示し、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>はそれぞれ独立に置換又は無置換のアルキル基を示し、Yは炭素原子数1から6個のアルキレン基（好ましくはメチレン基）を示し、Mは対イオンを示し、mは分子の荷電を中和するのに必要な数を示す）で表される放射性ヨウ素標識化合物。

【選択図】 なし

特願 2003-075638

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000005201]

1. 変更年月日

1990年 8月14日

[変更理由]

新規登録

住 所

神奈川県南足柄市中沼210番地

氏 名

富士写真フイルム株式会社